



TITLE:

Direct measurement of hepatic indocyanine green clearance with near-infrared spectroscopy and its application to a study of disorganization of microtubular network in postischemic liver dysfunction(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Shinohara, Hisashi

CITATION:

Shinohara, Hisashi. Direct measurement of hepatic indocyanine green clearance with near-infrared spectroscopy and its application to a study of disorganization of microtubular network in postischemic liver dysfunction. 京都大学, 1997, 博士(医学)

ISSUE DATE:

1997-03-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/202162>

RIGHT:

氏 名	しの はら ひさし 篠 原 尚
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1845 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Direct measurement of hepatic indocyanine green clearance with near-infrared spectroscopy and its application to a study of disorganization of microtubular network in postischemic liver dysfunction (近赤外光分析を用いた肝インドシアニンググリーンクリアランス直接測定法：その開発と虚血後肝機能障害における微小管ネットワーク脱構築の関与に関する研究への応用)

(主 査)
論文調査委員 教 授 千 葉 勉 教 授 田 中 紘 一 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

〔背景／目的〕 indocyanine green (ICG) は近赤外光領域の 805 nm に最大吸収を有する有機陰イオン色素試薬で、生体内では肝特異的に処理され血中より除去される。肝細胞における 1) 類洞側膜からの摂取, 2) 細胞内輸送および胆管側膜からの胆汁内排泄, の二つの移行過程のうち前者は肝血流依存性である。従って採血法により ICG 血中濃度変化から算出した従来の指標-血中消失率 (K-ICG) や肝最大除去率 (ICG-Rmax) -は有効肝血流量は反映し得ても色素輸送能や胆汁内排泄能といった肝細胞固有機能の評価には適さない。これらに関する有益な情報を得るには、肝組織内 ICG 濃度を連続的かつ非侵襲的に測定する必要がある。本研究では、近年開発された組織深部の吸光度変化を 700~2500 nm にわたり連続測定できる生体用近赤外光分析装置を用い、肝組織内 ICG 濃度の定量化とその経時変化の解析による摂取及び除去能の分離評価システムを開発し、有効性検定のため虚血後再灌流肝障害動物モデルへ適応した。

〔評価法の確率〕 肝細胞における ICG の二つの移行過程を反映する時定数 α , β (min^{-1}) を想定したコンパートメントモデルから重指数関数 $[\text{ICG}](t) = -A\exp(-\alpha t) + B\exp(-\beta t)$ を定義し、ICG (0.05 mg/kg) 静注後15分間の濃度変化曲線に回帰近似させた。ウサギ正常対照群における α : $1.098 \pm 0.084 \text{ min}^{-1}$ ($n=4$, mean \pm SEM), β : $0.095 \pm 0.008 \text{ min}^{-1}$ に対し、1) 肝細胞類洞側膜での ICG 摂取を拮抗的に阻害する bilirubin の負荷により α が $0.672 \pm 0.100 \text{ min}^{-1}$ に、また 2) 微小管の構築阻害により ICG の肝細胞内輸送を抑制する colchicine, 3) Na^+ , K^+ -ATPase 阻害剤である ouabain の各負荷により β が $0.042 \pm 0.010 \text{ min}^{-1}$ および $0.013 \pm 0.008 \text{ min}^{-1}$ に有意に低下することから、時定数 α , β がそれぞれ ICG の肝細胞摂取および除去を反映する指標であることを確認した。

〔虚血後再灌流肝障害モデルへの適応〕30分全肝虚血後再灌流早期（15分）の測定で α が $0.496 \pm 0.082 \text{ min}^{-1}$ に、 β が $0.027 \pm 0.007 \text{ min}^{-1}$ にそれぞれ有意に低下し、 β 低下は1時間後も回復しなかった。60分部分肝虚血群では虚血部（ $0.027 \pm 0.010 \text{ min}^{-1}$ ）のみならず非虚血部（ $0.049 \pm 0.010 \text{ min}^{-1}$ ）においても再灌流後 β の低下が観察された。これらの結果は、時定数 β が肝実質細胞障害の指標となること、また本法がいわゆる分肝機能評価法としても適用しうることを示している。

〔肝虚血再灌流障害における微小管脱構築〕肝虚血再灌流後にみられる β 、すなわち ICG 除去能の低下がいかなる病態に起因するものかを検討した。ICG の肝細胞内輸送における関与が知られている細胞骨格微小管は、化学構造が tubulin 二量体からなる polymer であり、高 Ca^{2+} や低 ATP に対して極めて不安定である。そこで in situ においても微小管構築を維持したままで観察しうる免疫組織化学的手法を用いて虚血再灌流後の微小管形態の変化をみた。再灌流早期（1時間）の肝細胞では対照肝でみられた放射状に伸展する線維様構造が消失し断片化が顕著であった。同時期の時定数 β も $0.026 \pm 0.009 \text{ min}$ と有意な低下をみたが、再灌流後期（24時間）には微小管形態、時定数 β （ $0.084 \pm 0.005 \text{ min}^{-1}$ ）のいずれも回復した。Prostaglandin E1 投与は再灌流早期における微小管形態を安定化し、かつ β を有意に改善した（ $0.089 \pm 0.014 \text{ min}^{-1}$ ）。このような微小管の脱構築と ICG の細胞内輸送機能障害の関連は、微小管の形態的、機能的变化が虚血後肝細胞機能障害の一因であることを示唆している。

〔結論〕近赤外光分析を用いた肝 ICG クリアランス直接測定法は有機陰イオンの肝内動態を反映する新しい肝機能評価法であり、今後その即時性および非侵襲性を生かした肝臓外科領域での臨床応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

有機陰イオン色素試薬インドシアニンググリーン（ICG）肝細胞摂取、細胞内輸送および細胞管内排泄の移行過程を、生体用近赤外光分析装置を用いた肝組織内 ICG 濃度定量化とその経時変化の解析により分離評価しうる、新しい肝機能検査システムを開発した。コンパートメントモデルから、ICG の肝細胞への流入過程を α 、消失過程を β とする重指数関数を定義し、ICG（ 0.05 mg/kg ）静注液15分間の濃度変化曲線に回帰近似させた。ウサギ正常対照肝における $\alpha = 1.098 \pm 0.084 \text{ min}^{-1}$ 、 $\beta = 0.095 \pm 0.008 \text{ min}^{-1}$ に対し、肝細胞類洞側膜での ICG 摂取を拮抗的に阻害するビリルビンにより α が $0.672 \pm 0.100 \text{ min}^{-1}$ に、また細胞骨格微小管の構築阻害により ICG の肝細胞内輸送を抑制するコルヒチンと Na^+ 、 K^+ -ATPase 阻害剤であるウアバインとにより β がそれぞれ $0.042 \pm 0.010 \text{ min}^{-1}$ と $0.013 \pm 0.008 \text{ min}^{-1}$ に有意に低下したことから、時定数 α 、 β の正当性を確認した。殊に β は ICG 除去に関する肝細胞固有機能の鋭敏な指標であり、肝容量の変化にも対応しうることを、ウサギ虚血後再灌流肝障害モデルへの適用により証明した。さらに微小管とミクロフィラメントの蛍光抗体二重染色法の併用により、再灌流後にみられる ICG 除去能の低下が微小管の形態的、機能的变化に起因する可能性を示唆した。本法は肝臓外科領域における術後肝機能モニタリング、術中のいわゆる分肝機能測定、さらには体外補助肝臓の機能評価等の分野でその即時性および非侵襲性を生かした臨床応用が期待される。

従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成9年1月6日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。